Aus der Medizinischen Universitätsklinik Bern
Direktor: Prof. Dr. W. Frey

Das Verhalten der Muskeleiweisskörper in der quergestreiften Muskulatur bei der chronischen, lokalen Histaminverabreichung

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Bern

vorgelegt von

Kurt Hartmann

aus Biel

Druckerei Wehrlin & Cie. · Bern 1942

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547623_0063

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Bern
Direktor: Prof. Dr. W. Frey

Das Verhalten der Muskeleiweisskörper in der quergestreiften Muskulatur bei der chronischen, lokalen Histaminverabreichung

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Bern

vorgelegt von

Kurt Hartmann

aus Biel

Druckerei Wehrlin & Cie. · Bern 1942

Auf Antrag von Herrn Prof. Dr. Frey, von der medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 26. November 1941.

Der Dekan der med. Fakultät:

Prof. Dr. med. A. v. Muralt

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

I. Einleitung

„ . . . Ein wichtiger, vielleicht der entscheidende Faktor für das Zustandekommen der Resynthesen ist die arterielle Blutzufuhr. Bekannt ist der Einfluß der Oxydation auf die Resynthese der Kohlehydrate. Ähnlich scheint es sich auch bei dem Wiederaufbau der Eiweißstrukturen zu verhalten. Hyperaemie als restituierendes Prinzip ist seit langem von der praktischen Therapie anerkannt . . .“ So äußert sich Prof. W. Frey bei der Betrachtung der Frage einer Gewebesregeneration als Grundlage therapeutischer Maßnahmen.

Einen praktischen Beitrag bei der Bearbeitung dieses Problems zu geben, wird in dieser Arbeit versucht, indem das Verhalten des Gesamteiweißes und der Eiweißfraktionen in der quergestreiften Muskulatur unter steigender Hyperaemie verfolgt wird. Auf Anregung von Herrn Prof. W. Frey habe ich experimentell die Eiweißkomponenten der quergestreiften Muskulatur, die mit Histamin vorbereitet worden war, analysiert, um so einen Einblick in den Mechanismus der Hyperaemie zu gewinnen.

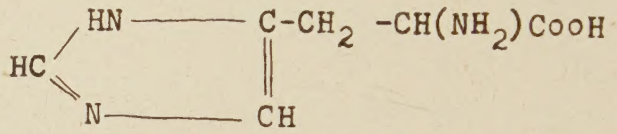
II. Mitteilungen des Schrifttums

A. Chemie und Entstehung des Histamins

Die Gefäßwirkung des Histamins und der Histamin-Jontophorese

Seitdem von Dale und seinen Mitarbeitern der eindeutige chemische Nachweis von Histamin in alkoholischen Organextrakten erbracht worden ist, wird Histamin als natürlicher Bestandteil des Gewebes angesehen. Es spielt bei der Muskel- und im allgemeinen bei der Zelltätigkeit eine bedeutende Rolle. Über die

Herkunft des freien Histamins in den Gewebeextrakten bestehen vorläufig nur Vermutungen. Durch Hydrolyse wird aus manchen Proteinstoffen ein Glyoxalinabkömmling, das l-Histidin, gewonnen:



Der Glyoxalin-(Imidazol)ring, der durch Ersatz einer dem Imid benachbarten -CH-Gruppe durch Stickstoff aus der Formel des Pyrrols abgeleitet werden kann, ist in wichtigen Stoffen des Organismus, wie z. B. in den Purinderivaten, enthalten.

Aus dem Histidin oder Carnosin (B-Alanylhistidin) kann unter der Einwirkung von Fäulnisbakterien und wahrscheinlich auch höheren Pilzen ohne vorherige Desaminierung durch CO_2-Abspaltung Histamin (Imidazolaethylamin) gebildet werden. Normalerweise werden allerdings Aminosäuren zuerst desamidiert und dann erst unter Abspaltung von CO_2 abgebaut, und es stellt die primäre Dekarboxylierung des Histidins einen außergewöhnlichen Vorgang dar, der das Vorkommen einer Histidinkarboxylase im Organismus voraussetzt.

Neuerdings ist noch auf einen andern Weg der Histaminbildung hingewiesen worden. Unter Einwirkung von Ascorbinsäure bei Anwesenheit von Sauerstoff wird vor allem d-Histidin in Histamin umgewandelt. (Holtz).

Im Organismus ist vorläufig als einzig sichere Histaminquelle die bakterielle Bildung aus Histidin im Darm bekannt. Im menschlichen und tierischen Darminhalt sind zahlreiche Erreger gefunden worden, die aus Histidin das Histamin bilden, (Feldberg und Schilf), das leicht resorbiert wird. Es erscheint deshalb möglich, daß dauernd kleine und unwirksame Histaminmengen aus dem Darm ins Blut gelangen und in verschiedenen Organen (vor allem in den Lungen) in einer bisher noch unbekannten, inaktiven Form gespeichert werden. (Bloch und Pinösch).

Durch ein aus Ochsennieren leicht darstellbares Ferment, der Histaminase, wird das Histamin im Organismus rasch zerstört (Best und Mc. Henry), und zwar soll die Aufspaltung durch Oxy-

dation unter gleichzeitiger Desaminierung stattfinden, wodurch der Histamingehalt der Gewebe reguliert wird. Der hohe Histaminasegehalt in der Wand des Dick- und Dünndarmes spricht für eine Spaltung toxischer Mengen von Darmhistamin zur Verhinderung einer resorptiven Vergiftung des Organismus. Da der Histaminase die Aufgabe zufällt, den Histamingehalt im Organismus konstant zu halten, so muß eine regulierbare Trennung zwischen Ferment und Substrat vorhanden sein, weswegen eine Resorption von Histamin, trotz Anwesenheit des Fermentes in der Darmwand, nicht ausgeschlossen ist. Das in den Geweben gespeicherte Histamin kann normalerweise nur in unwirksam gebundener Form vorkommen. Die inaktive Form ist nicht Histidin selbst, sondern vermutlich eine schlecht- oder unlösliche salzartige Verbindung, aus der aktives Histamin durch Alkohol, postmortale saure Stoffwechselprodukte, elektrischen Gleichstrom (Elektrodialyse) oder durch Abbau der salzbildenden Säurekomponenten, freigesetzt wird (Zipf).

Unter der Wirkung von Histamin erfolgt beim *Menschen* eine Abnahme des Gefäßtonus und eine Dilatation der Kapillaren. Der Blutdruck, vor allem der diastolische, sinkt ab, der Puls ist beschleunigt. Es kann zur inspiratorischen Dyspnoe und Atemstillstand kommen. Durch Erhöhung der Permeabilität der Kapillarwände kommt es zu interstitiellem Oedem.

Beim *Meerschweinchen,* bei dem der Bronchialkrampf im Vordergrund steht, läßt sich eine reine Gefäßkonstriktion feststellen.

Bei den *Herbivoren* (z. B. Kaninchen) steht die Verengerung dess Lungenkapillarsystemes im Vordergrund. Hosoya und Flatow geben im übrigen eine Kapillardilatation an, während Dale eine Kontraktion aller Arterien beschreibt. Bei den *Carnivoren* (z. B. Hund) kommt es zu einer Abflußsperre in den Lebervenen, während im allgemeinen bei Katzen und Hunden eine Erweiterung und Schädigung der Kapillaren, die durchlässig werden und Plasma austreten lassen, charakteristisch ist. Nach hohen Histamindosen kommt es zu schwerem Kreislaufkollaps. Die pharmakologischen Wirkungen des Histamins im Tierversuch sind demnach zusammengefaßt folgende: 1. Erweiterung der Kapillaren mit Steigerung der Kapillardurchlässigkeit, 2. Kontrak-

tion der glatten Muskulatur. Dazu kommen noch, was oben nicht näher ausgeführt wurde, da uns für diese Arbeit vor allem die Gefäßwirkungen interessieren: 3. Steigerung fast aller sekretorischer Funktionen und 4. Lähmung des Zentralnervensystems.

Die Frage der Hyperaemieerzeugung in der Skeletmuskulatur wurde von Vannotti und Guckelberger experimentell untersucht. Die beiden Autoren haben die Durchblutungsverhältnisse an der Kaninchenmuskulatur bei der lokalen, chronischen Histaminjontophorese studiert, und sind zu dem Resultat gekommen, daß, obgleich die adäquate Reaktion der kleineren, arteriellen Gefäße des Kaninchens auf Histamin eine einfache Vasokonstriktion ist, es durch wiederholte Histaminjontophorese in der Muskulatur gelingt, eine langdauernde Hyperaemie zu erzielen. In der Tat haben die Versuche der beiden Autoren gezeigt, daß die Zahl, der mit einem Kontrastmittel dargestellten Kapillaren und Kapillaranastomosen in den mit Histamin chronisch behandelten Muskelabschnitten eine deutliche, absolute Vermehrung gegenüber den unbehandelten Muskelabschnitten aufwies. Die dauernde Hyperaemie nach der Histaminbehandlung erinnert an die festgestellte Vermehrung der Zahl der Kapillaren in der trainierten Skeletmuskulatur und im hypertrophischen Herzmuskel. (Vannotti, Pfister und Magiday). Der Vergleich der zirkulatorischen Verhältnisse im hypertrophen und im unter Histaminwirkung stehenden Muskel ist naheliegend. Die Hyperaemie ist wohl nicht nur ein isoliertes Zeichen von lokalen Kreislaufveränderungen, sondern muß als zweckmäßiger Vorgang, der der veränderten Stoffwechsellage entsprechen soll, betrachtet werden.

B. Zahl und Art der Muskeleiweißkörper und ihre Bestimmung

Nach neueren Untersuchungen unterscheiden wir heute drei Gruppen von Eiweißstoffen:

1. Ein Muskelglobulin, *das Myosin,* ein Name, der von v. Fürth dem Eiweißkörper der Fibrillenstruktur gegeben wurde.

Die geringe Löslichkeit, selbst bei optimaler Salzkonzentration, die Strömungsdoppelbrechung, die hohe Viscosität und die

Möglichkeit, Kunstseidenfäden daraus zu spinnen, lassen darauf schließen, daß die Eiweißteilchen stäbchenförmige Struktur besitzen. (Edsall sowie v. Muralt und Edsall). Der isoelektrische Punkt liegt bei pH 5,0.

2. Ein Muskelalbumin, *das Myogen,* das durch Dialyse von Muskelpreßsaft ausfällt und kugelförmige Teilchen besitzt. Es zeigt niedrige Viscosität, keine Strömungsdoppelbrechung und ist in hoher Konzentration bei Abwesenheit von Salzen bei jedem pH löslich. Der isoelektrische Punkt liegt bei pH 6,3.

3. Wird diesem Dialysenniederschlag Salz bei pH 7—8 zugegeben, so ist er teilweise löslich. Durch die höhere Viscosität, breite Flockungszone um den isoelektrischen Punkt, der bei pH 5,0 liegt, ist dieser gelöste Anteil als Globulin charakterisiert, das sich aber vom Myosin durch das Fehlen der Strömungsdoppelbrechung, normale Viscosität, Ausfällbarkeit bei einer starken Verdünnung der KCl-Lösung bei pH 7 auszeichnet. Kunstseidenfäden lassen sich nicht ausspinnen. Diese unklare Eiweißfraktion wird als *Globulin X* bezeichnet.

K. Meyer hat nun die Löslichkeit des Muskels unter verschiedenen Extraktionsbedingungen, die Trennung und Erkennung der einzelnen Muskeleiweißkörper und ihre Mengenverhältnisse genau beschrieben. Es ist ihm gelungen, die einzelnen Eiweißfraktionen bei verschiedenen pH zu trennen, wobei er die Charakterisierung der einzelnen Eiweißkörper nach den oben gegebenen Eigenschaften vornahm.

Bei einem pH von 6,8 bis 7,0 und einer Molar-KCl-Konzentration von 0,03—0,04 fällt das Myosin allein aus, während Myogen, Globulin X und der Reststickstoff gelöst bleiben. Das Globulin X läßt sich aus dieser Lösung bei einem pH von 5,4—5,1 und einer Molar-KCl-Konzentration von 0,016 ausfällen.

Meyer ging dabei folgendermaßen vor:

Die Muskulatur wurde mit einer Ringerlösung von ca. 4° C sorgfältig durchspült und so blutleer gemacht. Muskelstücke wurden von Fett, Fascien und Bindegewebe gereinigt und zweimal durch die Fleischhackmaschine gegeben. Ungefähr 12 g Muskel wurden mit 120 ccm Extraktionslösung im geschlossenen Zentri-

fugenglas langsam rotiert, wobei Gummistücke, die im Glas auf und ab fielen, die Durchmischung besorgten. Extrahiert wurde 10 Mal, und zwar beim 1.—5. Mal mit einer Lösung von pH 9,0—9,1 und beim 6.—10. Mal mit einer solchen von etwa 9,8. Extraktion 1—5 und 6—10 wurden vereinigt und aliquote Teile verarbeitet. Die Einstellung für die Myosinfällung erfolgte durch Dialyse gegen m/130 Phosphatpuffer von pH 6,3. Durch Verdünnung mit passender Menge m/90 Acetatpuffer von pH 5,0 erfolgte die Globulin X-Fällung. Die Eiweißfraktionen wurden nach der Kjeldahl'schen Methode mengenmäßig bestimmt.

Mit dieser Methode fand Meyer folgende Durchschnittswerte für die Kaninchenmuskulatur:

	in % des Gesamt-N.		in % des Eiweiß-N.	
	weiß	rot	weiß	rot
Rest-N.	13	11	—	—
Myogen-N. . . .	19	15	22	17
Glob. X-N.	19	15	22	17
Myosin-N.	34	35	38	39
Stroma	15	24	18	27

In früheren Arbeiten von Halliburton, v. Fürth, P. E. Howe lauten die Angaben über die Zusammensetzung der Muskulatur an Eiweißstoffen sehr verschieden, was auf die zum Teil mangelhaften Extraktionsmethoden zurückzuführen ist, aber auch auf die nicht einheitliche Nomenklatur der einzelnen Eiweißfraktionen. Während Halliburton noch 4 Fraktionen unterschied, gab v. Fürth nur noch deren 3 an.

P. E. Howe extrahierte maximale Mengen von Eiweiß mit KH_2PO_4 und K_2HPO_4 im Verhältnis 1 : 2 mit einer Molarkonzentration zwischen 0,225 und 0,525. Für die Kaninchenmuskulatur gibt er folgende Durchschnittswerte an:

GN	Globulin-N	Albumin-N	RN	lösl. N	
3,57	1,20	0,15	0,44	1,79	mg

v. Fürth teilt im Oppenheimers Handbuch der Biochemie mit, daß die Muskulatur, wenn sie schnell unter Eiskühlung mit Ammoniumchloridlösung extrahiert würde, folgende Eiweißzusammensetzung habe:

in % des Gesamteiweißes

Myosin 13,5	Myogen 76,0	Stroma 10,5

III. Eigene Untersuchungen

A. Methodik der Histaminapplikation

Histamin verhält sich als Elektrolyt von positiver Ladung und wird folglich vom positiven Pol aus durch den galvanischen Strom in das Gewebe eingeführt. Das Histamin wurde in Form von 1 % Salbe (Imadyl Roche) verwendet, und zwar unter folgenden Versuchsbedingungen: Die Innenflächen der beiden hinteren Extremitäten von gleichgeschlechtigen, ungefähr gleich alten und gleich schweren Kaninchen wurden epiliert und, nachdem die Hautreaktion abgeklungen war, wurde mit der Jontophorese begonnen. Das Kaninchen wurde auf einem Brett festgebunden, die epilierte Hautstelle der rechten hinteren Extremität mit der Imadylsalbe eingerieben und mit Watte bedeckt, die mit Ringerlösung von ungefähr 18° C gut durchfeuchtet war. Als Anode wurde eine mit Filz versehene Bleielektrode darüber gebunden. Auf den Rücken des Tieres wurde die Kathode gelegt, nachdem hier die Leitfähigkeit mit einem in Ringerlösung getauchten Wattebausch hergestellt worden war. Als Vergleichsobjekt diente die linke hintere Pfote, indem hier direkt auf die epilierte Haut in Ringerlösung getauchte Watte und darüber die Anode gelegt

wurde. Die beiden Elektroden wurden genau voneinander isoliert, und die Jontophorese mit einem Strom von 5—10 mA während 5—15 Minuten durchgeführt. Behandelt wurde in Intervallen von 1—2 Tagen, während verschieden langer Zeitdauer: akuter Versuch bis zu 6 Wochen. Vor den Muskeluntersuchungen wurden die Tiere 2 Tage nicht mehr behandelt. Zu Beginn der Behandlung zeigte sich auf der behandelten Seite Cyanose, der dann nach kurzer Zeit Hyperaemie mit starker Wärmezunahme folgte, wie dies schon Vannotti und Guckelberger bei ihren Versuchen beschrieben haben. In der ersten Woche hinkten die Tiere deutlich mit der behandelten Extremität, waren aber sonst lebhaft und freßlustig wie die normalen Tiere. Tiere, die sich in ihrem Verhalten irgendwie von normalen Tieren unterschieden, wurden für die Untersuchungen nicht verwendet.

B. Methodik der Bestimmung der Muskeleiweißfraktionen

Die Tiere wurden durch Nackenschlag getötet und sofort Brust- und Bauchhöhle eröffnet. Mit der Schere wurde der linke Ventrikel aufgeschnitten, eine Kanüle in die Aorta eingeführt, und unter mäßigem aber konstantem Druck wurde eine eisgekühlte Ringerlösung injiziert. Gleichzeitig wurde die Vena cava inferior eröffnet. Die Durchspülung wurde so lange durchgeführt, bis aus der Vena cava inferior vollkommen klare Ringerlösung floß.

Für die Versuche wurde die Muskulatur der Innenseite der hinteren Extremitäten benutzt, und zwar wurden zuerst in Leerversuchen die Eiweißfraktionen der roten und weißen Muskulatur getrennt berechnet, in den weiteren Versuchen aber diese Trennung nicht mehr beibehalten, weil sich nur geringe Unterschiede ergaben, die noch innerhalb der Fehlergrenze lagen.

Die früheren Autoren haben bei der Bestimmung der Eiweißfraktionen der Muskulatur größere Muskelmengen genommen, die sie sorgfältig von Fascien, Binde- und Fettgewebe gesäubert hatten. In unseren Versuchen lagen ähnliche Bedingungen leider nicht vor, da wir das Histamin aus technischen Gründen

nur auf einer relativ kleinen Hautoberfläche applizieren konnten. Wir waren deshalb gezwungen, mit kleinen Muskelmengen zu arbeiten, und so konnten wir oft Fascien und die bindegewebigen Anteile von der Muskulatur nicht trennen. Diese Tatsache läßt sich auch in der später folgenden Verwertung unserer Versuche rechtfertigen. Die Stromawerte, also die Werte derjenigen Komponente, die nicht in Lösung gebracht werden konnte, sind aus diesem Grunde wohl abnorm hoch, doch haben wir in unserer Arbeit besonderen Wert auf die Verhältnisse der einzelnen Fraktionen zueinander und nicht auf absolute quantitative Werte gelegt. Deshalb haben wir diesen Fehler bewußt nicht ausgeschaltet, um nicht bei der Anwendung von Mikromethoden Gefahr anderer, größerer Ungenauigkeiten zu laufen.

Die Muskulatur wurde so gut es ging von Fascien, Bindegewebe und Fett gereinigt, zur Zerkleinerung zwei Mal durch die Fleischhackmaschine gegeben und für die Extraktion genau 5 gr abgewogen, während eine kleinere Menge zur Bestimmung der Trockensubstanz in den Eksiccator gebracht wurde.

Für die Extraktion wurde folgende Lösung benutzt:

n/10 H_3BO_3 425,0 n/10 Na (OH) 75,0 KCl 45,0
Aq. dest. ad. 1000,0

Mol. Konz. = 0,6 pH = 9,02

Die 5 gr Muskel wurden in einem Rundkolben mit 100 ccm der gut gekühlten Extraktionslösung gegeben und während 2—3 Stunden extrahiert, wobei unter ständiger Abkühlung die Lösung durch Glassternrührer durchmischt wurde. Nach der Extraktion wurde die Mischung zentrifugiert, die überstehende Lösung abpipettiert und der Rückstand zur Stromabestimmung im Brutschrank getrocknet. Das Myosin wurde durch Fällung bestimmt. Es wurde dabei folgendermaßen vorgegangen: 5 ccm des Muskelextraktes wurden 45 ccm Aqua dest. zugesetzt und soviel n/10 HCl tropfenweise zugegeben, bis der Indikator Methylrot vor dem Umschlag rot zu gelb stand. Diese Lösung hatte dann ein pH von 6,4, bei dem das Myosin allein ausfällt. Die darüberstehende Lösung enthielt nur noch die Fraktionen Myogen, Globulin X und den Reststickstoff. Bestimmt wurde der Gesamtstickstoff und der Reststickstoff dieser Lösung und die Fraktion (Myogen + Globulin X) durch Subtraktion der beiden Werte

berechnet. Von einer weiteren Trennung des Myogen und des Globulin X wurde abgesehen, da unseres Interesse hauptsächlich auf der Verschiebung der Myosinfraktion lag, und weil dabei große technische Schwierigkeiten vorliegen, die die Bestimmung und die Resultate stark beeinflußt hätten. Der Stickstoffgehalt der einzelnen Fraktionen wurde mit der Kjeldahl'schen Methode bestimmt.

C. Versuchsprotokolle und Ergebnisse

Es werden hier nur die methodisch einwandfreien Protokolle wiedergegeben. Die Berechnung bezieht sich jeweilen auf 100 gr Muskel.

Kaninchen I

Normales unbehandeltes Tier. Gewicht 2300 gr

Muskelgesamt-N

Gebraucht wurden 0,56 gr Muskel, titriert mit 12,4 Säure .. = 3,35 mgr

Trockensubstanz

0,999 gr frischer Muskel. Getrocknete Substanz 0,24 = 24,0 %

Extraktions-N.

5 ccm Extraktionslösung, titriert mit 2,35 Säure = 1,321 mgr

Rest-N.

5 ccm Extraktionslösung + 10 ccm Trichloressigsäure, titriert mit 1,77 Säure = 0,199 mgr

Myosin-N.

5 ccm Extraktionslösung gefällt durch 1,8 n/10 HCl., titriert mit 6,43 Säure = 0,712 mgr

Myogen-N. + Globulin X-N.

25 ccm Filtrat aus der Myosinfällung, titriert mit 2,65 Säure = 0,41 mgr

Stroma-N.

Muskelgesamt-N. - Extraktionsgesamt-N. 2,04 mgr

Kaninchen II

Normales, unbehandeltes Tier. Gewicht 2700 gr

Muskelgesamt-N.: 0,573 gr Muskel. Titr. 13,45	=	3,190 mgr
Trockensubstanz: 1,039 gr frischer Muskel.		
0,26 getrocknete Substanz	=	25,0 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,34	=	1,283 mgr
Rest-N.: Titr. 2,30	=	0,258 mgr
Myosin-N.: 2,19 n/10 HCl. Titr. 6,03	=	0,677 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 2,52	=	0,348 mgr
Stroma-N.:	=	1,907 mgr

Kaninchen III

Gewicht 2700 gr. Akuter Versuch mit 6 MA. während 6 Minuten.

A) Unbehandelte Seite:

Muskelgesamt-N.: 0,510 gr Muskel. Titr. 11,3	=	3,10 mgr
Trockensubstanz: 1,014 frischer Muskel.		
0,23 getrocknete Substanz	=	22,7 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,01	=	1,126 mgr
Rest-N.: Titr. 2,23	=	0,251 mgr
Myosin-N.: 1,69 n/10 HCl. Titr. 4,89	=	0,548 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 2,5	=	0,327 mgr
Stroma-N.:	=	1,974 mgr

B) Behandelte Seite:

Muskelgesamt-N.: 0,508 gr Muskel. Titr. 11,2	=	3,09 mgr
Trockensubstanz: 1,106 frischer Muskel.		
0,245 Trockensubstanz	=	22,0 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 1,99	=	1,117 mgr
Rest-N.: Titr. 2,33	=	0,262 mgr
Myosin-N.: 1,62 n/10 HCl. Titr. 4,37	=	0,49 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 2,7	=	0,365 mgr
Stroma-N.:	=	1,973 mgr

Kaninchen IV

Gewicht 2450 gr. Akuter Versuch mit 10 MA. in 10 Minuten.

A) Unbehandelte Seite:

Muskelgesamt-N.: 0,545 gr Muskel. Titr. 12,0	=	3,09 mgr

Trockensubstanz: 1,064 frischer Muskel
0,246 Trockensubstanz = 23,2 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,04 = 1,143 mgr
Rest-N.: Titr. 1,94 = 0,307 mgr
Myosin N.: 1,55 n/10 HCl. Titr. 4,87 = 0,541 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 2,60 = 0,295 mgr
Stroma-N.: = 1,947 mgr

B) Behandelte Seite:
Muskelgesamt-N.: 0,574 gr Muskel. Titr. 12,9 = 3,15 mgr
Trockensubstanz: 1,063 frischer Muskel
0,253 Trockensubstanz = 23,8 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,1 = 1,178 mgr
Rest-N.: Titr. 1,8 = 0,302 mgr
Myosin-N.: 1,77 n/10 HCl. Titr. 4,09 = 0,442 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 2,78 = 0,434 mgr
Stroma-N. = 1,972 mgr

Kaninchen V

Gewicht 3000 gr. Dauer der Behandlung eine Woche mit 25 MA. in 15 Minuten.

A) Unbehandelte Seite:
Muskelgesamt-N.: 0,639 gr Muskel. Titr. 15,4 = 3,44 mgr
Trockensubstanz: 1,04 frischer Muskel
0,24 Trockensubstanz = 25,21 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,70 = 1,516 mgr
Rest-N.: Titr. 2,53 = 0,284 mgr
Myosin-N.: 1,86 n/10 HCl. Titr. 6,51 = 0,700 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 3,52 = 0,532 mgr
Stroma-N.: = 1,924 mgr

B) Behandelte Seite:

Muskelgesamt-N.: 0,604 gr Muskel. Titr. 14,5 = 3,38 mgr
Trockensubstanz: 1,08 frischer Muskel
0,25 Trockensubstanz = 24,1 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,97 = 1,664 mgr

Rest-N.: Titr. 2,59 = 0,291 mgr
Myosin-N.: 2,11 n/10 HCl. Titr. 6,97 = 0,750 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 3,91 = 0,623 mgr
Stroma-N. = 1,716 mgr

Kaninchen VI

Gewicht 2600 gr. Dauer der Behandlung 2,5 Wochen mit 30 MA. in 25 Minuten.

A) Unbehandelte Seite:
Muskelgesamt-N.: 0,615 gr. Muskel. Titr. 14,3 = 3,26 mgr
Trockensubstanz: 1,03 frischer Muskel
0,234 Trockensubstanz = 23,3 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,89 = 1,627 mgr
Rest-N.: Titr. 3,38 = 0,378 mgr
Myosin-N.: 2,1 n/10 HCl. Titr. 7,43 = 0,704 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 3,52 = 0,545 mgr
Stroma-N.: = 1,633 mgr

B) Behandelte Seite:
Muskelgesamt-N.: 0,621 gr. Muskel. Titr. 14,5 = 3,27 mgr
Trockensubstanz: 1,112 frischer Muskel
0,262 Trockensubstanz = 23,6 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,86 = 1,657 mgr
Rest-N.: Titr. 3,28 = 0,368 mgr
Myosin-N.: 2,0 n/10 HCl. Titr. 6,29 = 0,832 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 3,54 = 0,457 mgr
Stroma-N.: = 1,613 mgr

Kaninchen VII

Gewicht 2100 gr. Dauer der Behandlung 4 Wochen mit 76 MA. in 79 Minuten.

A) Unbehandelte Seite:
Muskelgesamt-N.: 0,620 gr Muskel. Titr. 15,5 = 3,50 mgr
Trockensubstanz: 1,014 frischer Muskel
0,245 Trockensubstanz = 24,2 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,61 = 1,465 mgr

Rest-N.: Titr. 3,58 = 0,401 mgr
Myosin-N.: 1,98 n/10 HCl. Titr. 6,03 = 0,675 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 3,44 = 0,389 mgr
Stroma-N. = 2,035 mgr

B) Behandelte Seite:
Muskelgesamt-N.: 0,606 gr Muskel. Titr. 16,0 = 3,69 mgr
Trockensubstanz: 1,102 frischer Muskel
0,271 Trockensubstanz = 24,5 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,60 = 1,461 mgr
Rest-N.: Titr. 3,8 = 0,427 mgr
Myosin-N.: 1,8 n/10 HCl. Titr. 5,07 = 0,754 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 3,05 = 0,280 mgr
Stroma-N. = 2,229 mgr

Kaninchen VIII

Gewicht 2200 gr. Dauer der Behandlung 6 Wochen mit 80 MA. in 80 Minuten.

A) Unbehandelte Seite:
Muskelgesamt-N.: 0,702 gr Muskel. Titr. 14.49 = 3.06 mgr
Trockensubstanz: 1,216 frischer Muskel
0,279 Trockensubstanz = 22,8 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,6 = 1,461 mgr
Rest-N.: Titr. 2,36 = 0,265 mgr
Myosin-N.: 1,9 n/10 HCl. Titr. 6,67 = 0,735 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 3,12 = 0.461 mgr
Stroma-N. = 1,599 mgr

B) Behandelte Seite:
Muskelgesamt-N.: 0,600 gr Muskel. Titr. 14.61 = 3.78 mgr
Trockensubstanz: 1,195 frischer Muskel
0,270 Trockensubstanz = 22,6 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,86 = 1,648 mgr
Rest-N.: Titr. 2,36 = 0,265 mgr
Myosin-N.: 2,0 n/10 HCl. Titr. 8,10 = 0,907 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 3,18 = 0,476 mgr
Stroma-N. = 2,132 mgr

Kaninchen IX

Gewicht 2500 gr. Dauer der Behandlung 6 Wochen mit 90 MA. in 85 Minuten.

A) Unbehandelte Seite:

Muskelgesamt-N.: 0,731 gr Muskel. Titr. 18,1	=	3,44 mgr
Trockensubstanz: 1,102 frischer Muskel		
0,261 Trockensubstanz	=	23,6 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 3,18	=	1,777 mgr
Rest-N.: Titr. 4,2	=	0,470 mgr
Myosin-N.: 2,20 n/10 HCl. Titr. 7,35	=	0,824 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 4,07	=	0,483 mgr
Stroma-N.	=	1,663 mgr

B) Behandelte Seite:

Muskelgesamt-N.: 0,619 gr Muskel. Titr. 15,7	=	3,56 mgr
Trockensubstanz: 1,113 frischer Muskel		
0,271 Trockensubstanz	=	24,4 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 3,3	=	1,850 mgr
Rest-N.: Titr. 4,3	=	0,483 mgr
Myosin-N.: 2,15 n/10 HCl. Titr. 7,40	=	0,840 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 4,35	=	0,526 mgr
Stroma N.	=	1,710 mgr

Kaninchen X

Gewicht 2400 gr. Dauer der Behandlung 5 Wochen mit 130 MA. in 120 Minuten.

A) Unbehandelte Seite:

Muskelgesamt-N.: 0,587 gr Muskel. Titr. 14,0	=	3,34 mgr
Trockensubstanz: 0,587 frischer Muskel		
0,192 Trockensubstanz	=	18,4 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,98	=	1,674 mgr
Rest-N.: Titr. 4,32	=	0,485 mgr
Myosin-N.: 2,12 n/10 HCl. Titr. 7.8		0,875 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 3,50	=	0,314 mgr
Stroma-N.	=	1,666 mgr

B) Behandelte Seite:

Muskelgesamt-N.: 0,600 gr Muskel. Titr. 14,6	=	3,41 mgr
Trockensubstanz: 0,642 frischer Muskel		
0,157 Trockensubstanz	=	24,6 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 3,19	=	1,788 mgr
Rest-N.: Titr. 4,5	=	0,504 mgr
Myosin-N.: 1,97 n/10 HCl. Titr. 8,36	=	0,935 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 3.59	=	0,349 mgr
Stroma-N.	=	1,622 mgr

Kaninchen XI

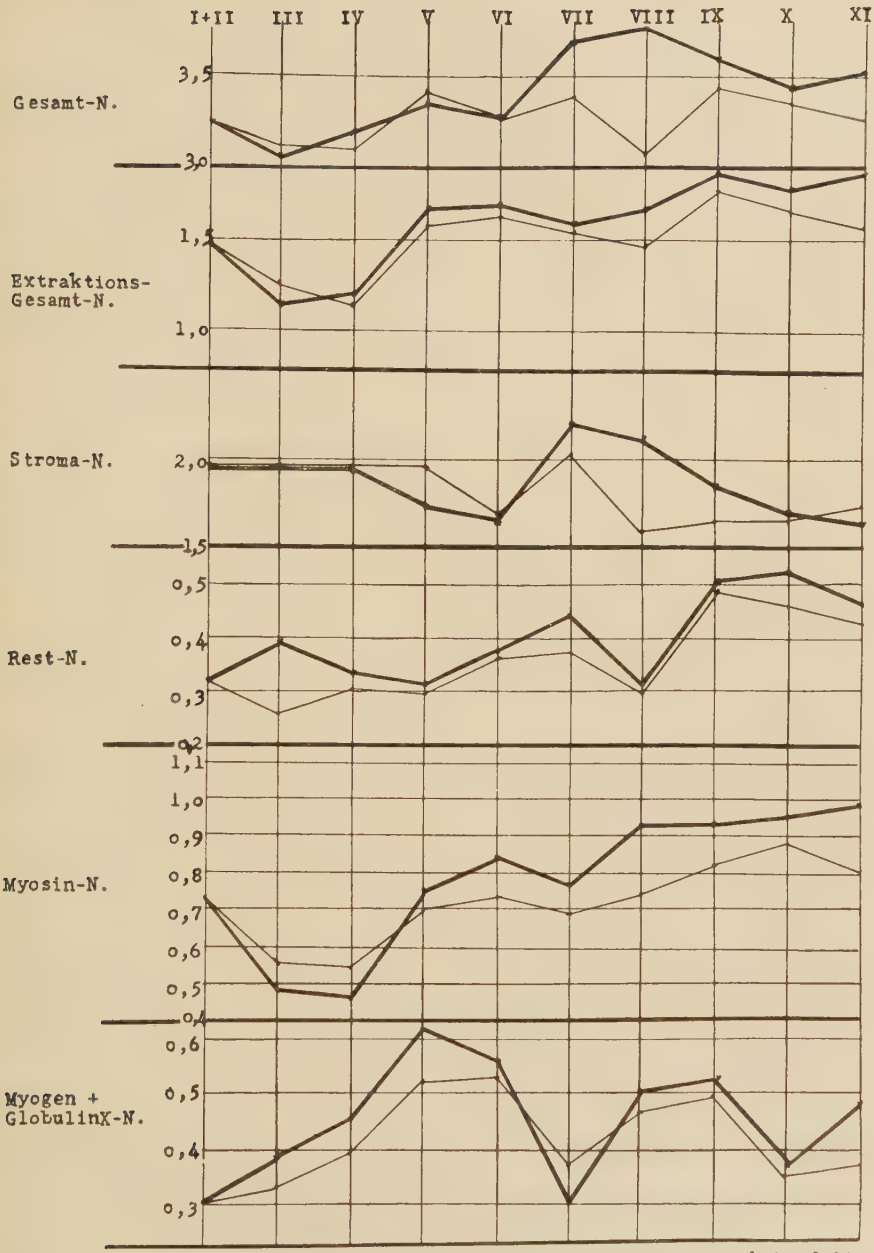
Gewicht 2300 gr. Dauer der Behandlung 5 Wochen mit 140 MA. in 125 Minuten.

A) Unbehandelte Seite:

Muskelgesamt-N.: 0,462 gr Muskel. Titr. 10.8	=	3,27 mgr
Trockensubstanz: 0,927 frischer Muskel		
0,279 Trockensubstanz	=	32,05 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 2,76	=	1,559 mgr
Rest-N.: Titr. 3,96	=	0,443 mgr
Myosin-N.: 2,07 n/10 HCl. Titr. 8,41	=	0,789 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 3,3	=	0,327 mgr
Stroma-N.	=	1,711 mgr

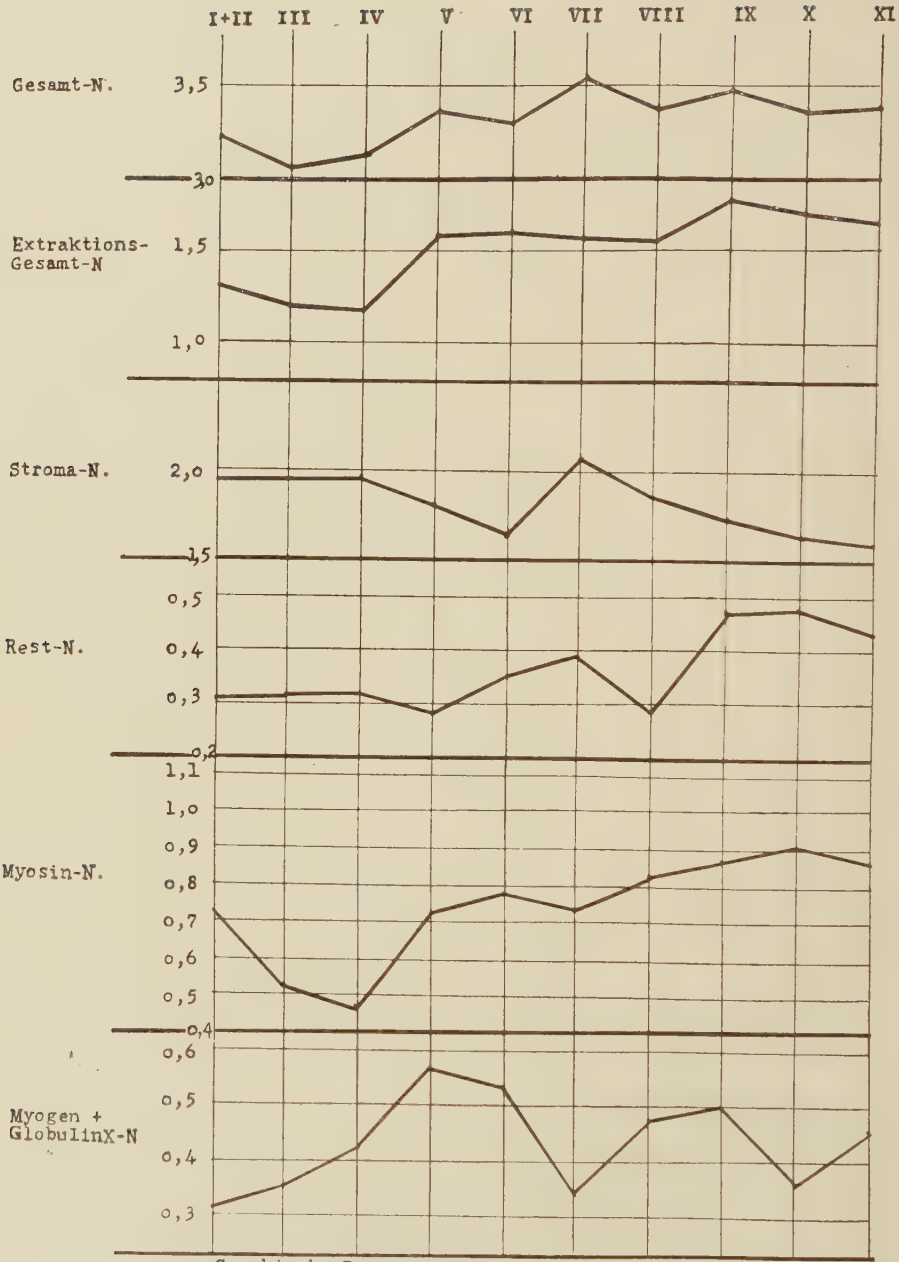
B) Behandelte Seite:

Muskelgesamt-N: 0,600 gr Muskel. Titr. 15.0	=	3,50 mgr
Trockensubstanz: 1,165 frischer Muskel		
0,235 Trockensubstanz	=	20,90 %
Extraktionsgesamt-N.: Titr. 3,38	=	1,896 mgr
Rest-N.: Titr. 4,07	=	0,456 mgr
Myosin-N.: 2,36 n/10 HCl. Titr. 7,04	=	0,976 mgr
Myogen-N. + Globulin X-N.: Titr. 3,93	=	0,464 mgr
Stroma-N.	=	1,604 mgr



Graphische Darstellung der gefundenen Werte.

behandelt.
unbehandelt.



Graphische Darstellung der Mittelwerte von behandelter und unbehandelter Muskulatur.

IV. Diskussion der Ergebnisse

Bei der Betrachtung der Zahlen der Ergebnisse fällt zuerst auf, daß von einer strengen Konstanz der Stickstoffzahlen nicht gesprochen werden kann. Auch bei der Verwertung nur der einwandfreien Untersuchungsergebnisse findet man oft Schwankungen, die von verschiedenen Faktoren abhängig sind, und die kaum ausgeschaltet werden können. Von diesen störenden Einflüssen seien hier erwähnt: Die verschieden lange Dauer der Durchspülung der Muskulatur, die nicht gleichzeitige Verarbeitung der behandelten und unbehandelten Muskulatur usw.

Die oben wiedergegebenen Kurven zeigen aber gewisse Hauptmerkmale und gewisse Beziehungen zwischen den verschiedenen Werten, die einige Schlüsse zu ziehen erlauben:

In erster Linie ist die Tatsache hervorzuheben, daß im Laufe der Versuche die Werte der unbehandelten Muskulatur, wenn auch in wesentlich geringerem Maße, so doch in gleicher Weise von der Norm abwichen, wie die der behandelten Muskulatur. Da wir ja, wie schon erwähnt, auch auf die nicht mit Histamin behandelte Extremität Gleichstrom in gleicher Dauer und gleicher Intensität haben einwirken lassen, so erklären sich diese Veränderungen in der Eiweißstruktur der nicht mit Histamin behandelten Muskulatur ungezwungen aus der Freisetzung von aktivem Histamin aus der im Gewebe gebundenen und unwirksamen salzartigen Verbindung durch den elektrischen Strom (W. Zipf). Aus den Protokollen ist ersichtlich, daß sich die Eiweißverhältnisse nach der Intensität — innerhalb einer gewissen Grenze von 4—6 Wochen — und nicht nach der Dauer der Behandlung ändern. Aus diesem Grunde wurden auf die Abszisse der graphischen Darstellungen die Ergebnisse nach der Gesamtdosis in Milliampère und nicht nach der Behandlungsdauer in Wochen eingetragen.

Da angenommen werden kann, daß durch den angewendeten Gleichstrom auf der ohne Histamin behandelten Extremität in den Zellen aktives Histamin freigeworden ist, und somit eine,

wenn auch geringe Verschiebung der Eiweißfraktionen bewirkt hat, haben wir die Mittelwerte von behandelter und unbehandelter Muskulatur berechnet und kurvenmäßig aufgezeichnet.

Auf den Kurven läßt sich feststellen, daß der Gesamt-N. des Muskels wie auch der Extraktion eine allmähliche Zunahme erfährt, der eine Vermehrung des Myosin-N. und Rest-N. parallel geht. An dieser ersten Reaktionsphase scheint ebenfalls das Myogen, wenn auch in geringerem Maße, beteiligt zu sein. Der Stickstoffgehalt des Stromas dagegen sinkt bei längerer Dauer der Behandlung deutlich ab. Die Myosin-Zunahme ist nicht eine Erscheinung, die so stark allein nur bei Einwirkung von elektrischem Strom auf die Muskulatur eintritt, sondern sie entwikkelt sich besonders nach einer Behandlung mit Histamin. (Tabelle 1)

Während der Gesamt-N., Rest-N. und Myosin-N. bei längerer Behandlung zunehmen, kann im akuten Versuch eine Abnahme der Werte des Extraktions-N. und Myosin-N. beobachtet werden, was auf eine Wasseranreicherung, d. h. auf ein lokales Oedem zurückgeführt werden muß, und das beim Studium der Durchblutungsverhältnisse nach der akuten Histaminverabreichung deutlich in Erscheinung tritt (Legobbe).

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen gestatten es uns, Rückschlüsse auf den Wirkungsmechanismus der lokalen Histaminapplikation und der damit verbundenen Histaminhyperaemie auf die Eiweißbestandteile der Muskulatur zu ziehen:

Chronischer Histaminreiz, dauernde Hyperaemie, führen langsam zu einer Anreicherung von Eiweiß in der Muskulatur, wobei der Myosin- und der Rest-Stickstoff in stärkerem Maße als die andern Fraktionen beteiligt sind. Das Stroma, derjenige Stickstoffanteil, der nach der Extraktion des löslichen Eiweißes zurückbleibt, nimmt nach langdauernder Histaminjontophorese ab. Die Zellen werden also reicher an löslichem Eiweiß, vor allem an Myosin, während das interstitielle Gewebe prozentual an der Zusammensetzung der Gewebe dementsprechend abnimmt. Die durch eine chronische Histaminjontophorese bewirkte Hyperaemie hat in der Muskulatur einen Aufbau von Eiweißstrukturen hervorgerufen, und es sind die Bedingungen für eine Gewebesynthese, nach dem Ausdruck von Prof. W. Frey, damit geschaffen.

V. Zusammenfassung

Die arterielle Blutzufuhr ist nach Prof. W. Frey nicht nur für die Resynthese der Kohlehydrate, sondern sehr wahrscheinlich auch für den Wiederaufbau von Eiweißstrukturen von ausschlaggebender Bedeutung. Im Rahmen des allgemeinen Problems chemischer Geweberegeneration wurde auf Veranlassung von Prof. W. Frey versucht, Veränderungen in der Verteilung der Eiweißfraktionen der quergestreiften Muskulatur nach wiederholter Einwirkung von Histamin zu studieren.

Am Kaninchen wurde durch Jontophorese Histamin in die Muskulatur der hintern Extremitäten gebracht. Die Behandlung wurde verschieden lange (1—6 Wochen) durchgeführt. Nach Durchspülung der Muskulatur wurde diese extrahiert und mit verschiedenen Salzgemischen die Eiweißfraktionen ausgefällt. Nach der Kjeldahl'schen Methode wurden Gesamt-N., Stroma-N., Rest-N., Myosin, Myogen + Globulin X quantitativ bestimmt.

Nach Histaminjontophorese kann man eine deutliche Eiweißanreicherung in der Muskulatur beobachteten, an der vor allem das Myosin und der Rest-N. beteiligt sind, während das Stroma gleichzeitig pro Gewichtseinheit abnimmt, d. h. es kommt zu einer prozentualen Abnahme des interstitiellen Gewebes. Es ist naheliegend, daß diese Veränderungen in der chemischen Zusammensetzung der Muskulatur in erster Linie mit der von Vannotti und Guckelberger festgestellten dauernden Hyperaemie nach chronischer Histamineinwirkung in Zusammenhang gebracht werden müssen.

Die mit der Hyperaemie erzielte Steigerung der Organleistung wirkt hier im Sinne des von Prof. W. Frey formulierten adaequaten Reizes zur Förderung von chemischen Regenerationen.

Literaturnachweis

Best Ch., Dale H. H., Dudley H. W. und Thorpe W. V.: The nature of the vasodilatator constituents of certain time extracts. Journ. Physiol. 62/397/1927.

Bloch W. und Pinösch H.: Die Umwandlung von Histidin in Histamin im tierischen Organismus. Zschr. physiol. chem. 23/236/1936.

Edsall J. T.: Journ. of. biolog. chem. 89/1930.

Feldberg W. und Schilf E.: Histamin. Springer, Berlin. 1930.

Frey W.: Chem. Regeneration von Geweben. I. Internat. Kongreß der therapeut. Union, Bern. 1937.

Fürth O. in Oppenheimer's Handbuch der Biochemie, Bd. 4, S. 297, 1925.

Holtz P.: Histaminbildung aus Histidin durch Ascorbinsäure. Naturwissenschaften 25/14/1937.

Howe P. E: Journal of biolog. chem. 61/493/1924.

Legobbe E.: Diss. med. Bern, 1938.

Tarras-Wahlberg B.: Über den Histamingehalt in der Haut nach Ultraviolettbestrahlung. Klin. Wschr. 958/1937.

Vannotti A. und Guckelberger M.: Untersuchungen zum Studium des Trainiertseins. VII. Mitteilung. Arb. phys. 8/4/1935.

Vannotti A. und Magiday M.: Arb. physiolog. 7/615/1934.

Vannotti A. und Pfister H.: Arb. physiolog. 7/128/1933.

Wassermann M.: Diss. med. Bern. 1936.

Werle E. und Heitzer K.: Zur Kenntnis der Histidincarboxylase. Biochem. Z. 299. 420—436. 1938.

Zipf Karl: Histamin als körpereigener Wirkstoff.
Schriften der Königsberger Gelehrten Gesellschaft. 14/3/1937.